

腸内常在菌叢の代謝産物の產生に関する 遺伝子の制御による腸内環境の改善 (概要版)

栗原 新

石川県立大・腸内細菌共生機構学寄附講座(IFO)

腸内細菌とは？



数：数10兆個（宿主であるヒト細胞とほぼ同じ）

重量：1kg 以上

種類：主なものだけで150菌種以上

個人差：非常に大きい

腸内細菌叢と健康

腸内細菌と腸炎との関連

Nature, 504:446-50. (2014).

Nature Immunol., 15:517-9. (2014).

腸内細菌と肥満・糖尿病との関連

Nature, 519:92-6. (2015).

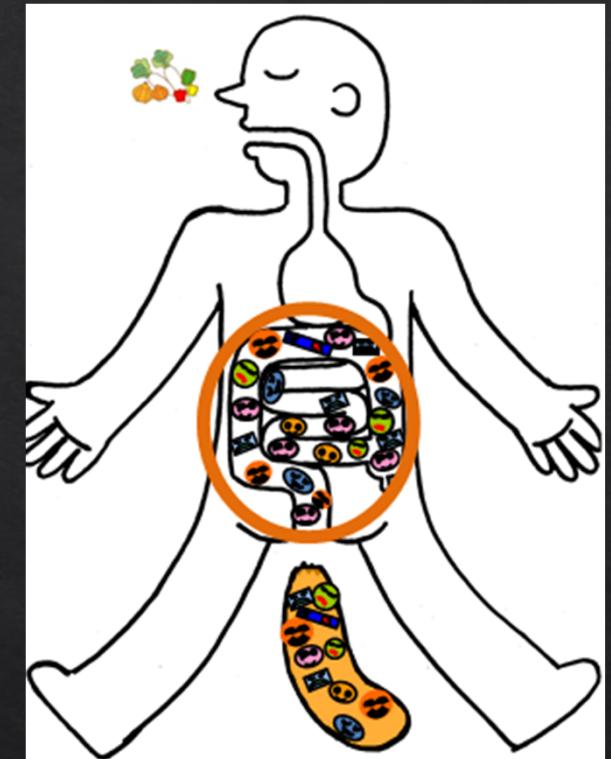
Nature, 514:181-186. (2014).

Nature, 444:1027-31. (2006).

腸内細菌と知能との関連

Cell, 155:1451-1463. (2013).

Sci. Rep., 4:4548 (2014).



「もう一つの臓器」?

疾患と腸内細菌との関連 (非培養法による菌叢解析)

疾患	増加している、または割合の多い菌種	減少している、または割合の少ない菌種	文献
2型糖尿病	<i>Bacteroides caccae</i>	<i>Eubacterium rectale</i>	(1)
	<i>Clostridium hathewayi</i>	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	
	<i>Clostridium ramosum</i>	<i>Roseburia intestinalis</i>	
	<i>Clostridium symbiosum</i>	<i>Roseburia inulinivorans</i>	
	<i>Eggerhella lenta</i>		
	<i>Escherichia coli</i>		
	<i>Akkermansia muciniphila</i>		
1型糖尿病	<i>Bacteroides ovatus</i>	<i>Bacteroides vulgatus</i>	(2)
		<i>Bacteroides fragilis</i>	
肥満	<i>Ruminococcus torques</i>	<i>Bacteroides thetaiotaomicron</i>	(3)
	<i>Blautia producta</i>	<i>Bacteroides cellulosilyticus</i>	
	<i>Bacteroides massiliensis</i>	<i>Bacteroides vulgatus</i>	
		<i>Bacteroides caccae</i>	
		<i>Parabacteroides merdae</i>	
クローン病	<i>Ruminococcus gnavus</i>		(4)
		<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	
肝硬変	<i>Streptococcus salivarius</i>	<i>Faecalibacterium prausnitzii</i>	(6)
	<i>Ruminococcus gnavus</i>	<i>Coprococcus comes</i>	
	<i>Villonella paravula</i>	<i>Alistipes putredinis</i>	

1. *Nature* 490, 55-60 (2012) 2. *ISME J* 5, 82-91. (2011) 3. *Science* 341, 1241214. (2013)

4. *Am J Gastroenterol* 105, 2420-2428. (2010) 5. *J Gastroenterol Hepatol* 28, 613-619. (2013) 6. *Nature* 513, 59-64. (2014)

ヒト腸内細菌最優勢56種 (非培養法による菌叢解析)

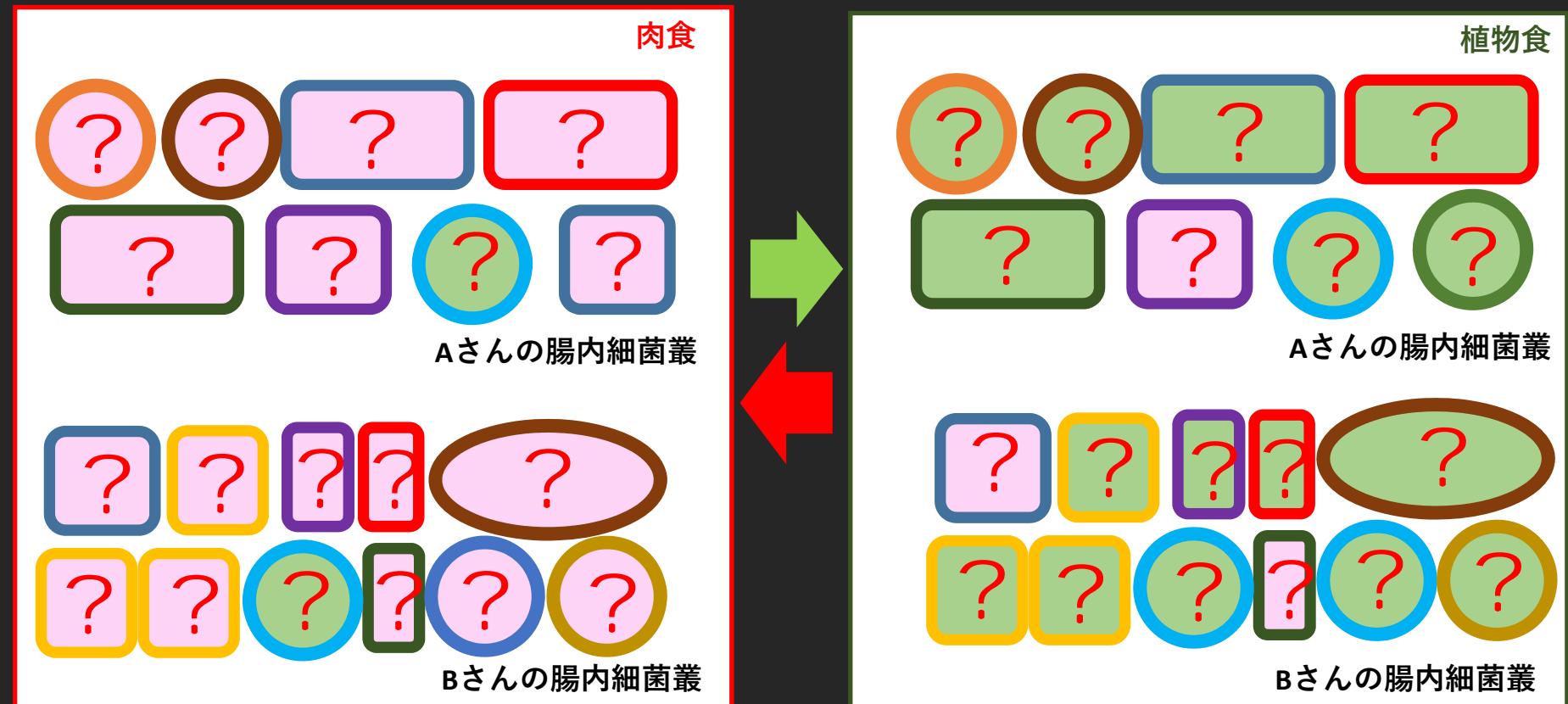
占有順位	属名	種名	分譲機関番号	占有順位	属名	種名	分譲機関番号
1	<i>Bacteroides</i>	<i>uniformis</i>	JCM 5828	29	<i>Bacteroides</i>		
2	<i>Alistipes</i>	<i>putredinis</i>	JCM 16772	30	<i>Bacteroides</i>		
3	<i>Parabacteroides</i>	<i>merdae</i>	JCM 9497	31	<i>Eubacterium</i>	<i>ventriosum</i>	ATCC 27560
4	<i>Dorea</i>	<i>longicatena</i>	DSM 13814	32	<i>Bacteroides</i>	<i>dorei</i>	JCM 13471
5	<i>Ruminococcus</i>	<i>bromii</i>	ATCC 27255	33	<i>Ruminococcus</i>	<i>obeum</i>	DSM 25238
6	<i>Bacteroides</i>	<i>caccae</i>	JCM 9498	34	<i>Subdoligranulum</i>	<i>variabile</i>	DSM 15176
7	<i>Clostridium</i>			35	<i>Bacteroides</i>	<i>capillosus</i>	ATCC 29799
8	<i>Bacteroides</i>	<i>thetaiotaomicron</i>	JCM 5827	36	<i>Streptococcus</i>	<i>thermophilus</i>	JCM 17834
9	<i>Eubacterium</i>	<i>hallii</i>	ATCC 27751	37	<i>Clostridium</i>	<i>leptum</i>	ATCC 29065
10	<i>Ruminococcus</i>	<i>torques</i>	ATCC 27756	38	<i>Holdemania</i>	<i>filiformis</i>	DSM 12042
11	<i>unknown</i>			39	<i>Bacteroides</i>	<i>stercoris</i>	JCM 9496
12	<i>Ruminococcus</i>			40	<i>Coprococcus</i>	<i>eutactus</i>	ATCC 27759
13	<i>Faecalibacterium</i>	<i>prausnitzii</i>	ATCC 27768	41	<i>Clostridium</i>		入手不能
14	<i>Ruminococcus</i>	<i>lactaris</i>	ATCC 29176	42	<i>Bacteroides</i>	<i>eggerthii</i>	JCM 12986
15	<i>Collinsella</i>	<i>aerofaciens</i>	JCM 7790	43	<i>Butyrivibrio</i>	<i>crossotus</i>	DSM 2876
16	<i>Dorea</i>	<i>formicigenerans</i>	ATCC 27755	44	<i>Bacteroides</i>	<i>finegoldii</i>	JCM 13345
17	<i>Bacteroides</i>	<i>vulgatus</i>	JCM 5826	45	<i>Parabacteroides</i>	<i>johsonii</i>	JCM 13406
18	<i>Roseburia</i>	<i>intestinalis</i>	DSM 14610	46	<i>Clostridium</i>		入手不能
19	<i>Bacteroides</i>			47	<i>Clostridium</i>	<i>nexile</i>	ATCC 27757
20	<i>Eubacterium</i>	<i>siraeum</i>	ATCC 29066	48	<i>Bacteroides</i>	<i>pectinophilus</i>	ATCC 43243
21	<i>Parabacteroides</i>	<i>distasonis</i>	JCM 5825	49	<i>Anaerotruncus</i>	<i>colihominis</i>	JCM 15631
22	<i>Bacteroides</i>			50	<i>Ruminococcus</i>	<i>gnavus</i>	ATCC 29149
23	<i>Bacteroides</i>	<i>ovatus</i>	JCM 5824	51	<i>Bacteroides</i>	<i>intestinalis</i>	JCM 13265
24	<i>Bacteroides</i>			52	<i>Bacteroides</i>	<i>fragilis</i>	JCM 11019
25	<i>Bacteroides</i>			53	<i>Clostridium</i>	<i>asparagiforme</i>	DSM 15981
26	<i>Eubacterium</i>	<i>rectale</i>	JCM 17463	54	<i>Enterococcus</i>	<i>faecalis</i>	ATCC 700802
27	<i>Bacteroides</i>	<i>xylanisolvans</i>	JCM 15633	55	<i>Clostridium</i>	<i>scindens</i>	JCM 6567
28	<i>Coprococcus</i>	<i>comes</i>	ATCC 27758	56	<i>Blautia</i>	<i>hansenii</i>	JCM 14655

Nature 464: 59–65 (2010)

デンマークとスペインの健常成人と肥満成人を含む124人の腸内細菌を培養を介さない方法で解析し、占有率を上位56種について算出した。

腸内細菌の遺伝子機能同定の重要性

Nature 505:559–63. (2014)

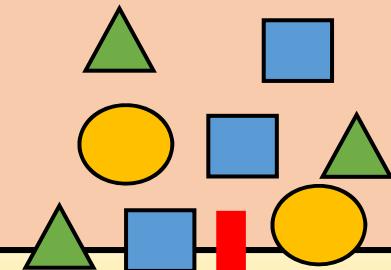


腸内環境の制御は遺伝子発現の制御によって成立するが、
遺伝子機能が不明なのでこれが**不可能**である。

腸内細菌の代謝産物の重要性

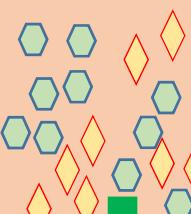
大腸腸管内腔

腸内細菌



代謝産物

代謝・放出



粘液層（体外）

大腸上皮

(体内)



吸收・利用可能



例) 短鎖脂肪酸
アミン

ヒト腸内細菌最優勢56種でGAM培地で生育可能な細菌

占有順位	属名	種名	分譲機関番号	占有順位	属名	種名	分譲機関番号
1	<i>Bacteroides</i>	<i>uniformis</i>	JCM 5828	29	<i>Bacteroides</i>		
2	<i>Alistipes</i>	<i>putredinis</i>	JCM 16772	30	<i>Bacteroides</i>		
3	<i>Parabacteroides</i>	<i>merdae</i>	JCM 9497	31	<i>Eubacterium</i>	<i>ventriosum</i>	ATCC 27560
4	<i>Dorea</i>	<i>longicatena</i>	DSM 13814	32	<i>Bacteroides</i>	<i>dorei</i>	JCM 13471
5	<i>Ruminococcus</i>	<i>bromii</i>	ATCC 27255	33	<i>Ruminococcus</i>	<i>obeum</i>	DSM 25238
6	<i>Bacteroides</i>	<i>caccae</i>	JCM 9498	34	<i>Subdoligranulum</i>	<i>variabile</i>	DSM 15176
7	<i>Clostridium</i>			35	<i>Bacteroides</i>	<i>capillosus</i>	ATCC 29799
8	<i>Bacteroides</i>	<i>thetaiotaomicron</i>	JCM 5827	36	<i>Streptococcus</i>	<i>thermophilus</i>	JCM 17834
9	<i>Eubacterium</i>	<i>hallii</i>	ATCC 27751	37	<i>Clostridium</i>	<i>leptum</i>	ATCC 29065
10	<i>Ruminococcus</i>	<i>torques</i>	ATCC 27756	38	<i>Holdemania</i>	<i>filiformis</i>	DSM 12042
11	<i>unknown</i>			39	<i>Bacteroides</i>	<i>stercoris</i>	JCM 9496
12	<i>Ruminococcus</i>			40	<i>Coprococcus</i>	<i>eutactus</i>	ATCC 27759
13	<i>Faecalibacterium</i>	<i>prausnitzii</i>	ATCC 27768	41	<i>Clostridium</i>		入手不能
14	<i>Ruminococcus</i>	<i>lactaris</i>	ATCC 29176	42	<i>Bacteroides</i>	<i>eggerthii</i>	JCM 12986
15	<i>Collinsella</i>	<i>aerofaciens</i>	JCM 7790	43	<i>Butyrivibrio</i>	<i>crossotus</i>	DSM 2876
16	<i>Dorea</i>	<i>formicigenerans</i>	ATCC 27755	44	<i>Bacteroides</i>	<i>finegoldii</i>	JCM 13345
17	<i>Bacteroides</i>	<i>vulgatus</i>	JCM 5826	45	<i>Parabacteroides</i>	<i>johsonii</i>	JCM 13406
18	<i>Roseburia</i>	<i>intestinalis</i>	DSM 14610	46	<i>Clostridium</i>		入手不能
19	<i>Bacteroides</i>			47	<i>Clostridium</i>	<i>nexile</i>	ATCC 27757
20	<i>Eubacterium</i>	<i>siraeum</i>	ATCC 29066	48	<i>Bacteroides</i>	<i>pectinophilus</i>	ATCC 43243
21	<i>Parabacteroides</i>	<i>distasonis</i>	JCM 5825	49	<i>Anaerotruncus</i>	<i>colihominis</i>	JCM 15631
22	<i>Bacteroides</i>			50	<i>Ruminococcus</i>	<i>gnavus</i>	ATCC 29149
23	<i>Bacteroides</i>	<i>ovatus</i>	JCM 5824	51	<i>Bacteroides</i>	<i>intestinalis</i>	JCM 13265
24	<i>Bacteroides</i>			52	<i>Bacteroides</i>	<i>fragilis</i>	JCM 11019
25	<i>Bacteroides</i>			53	<i>Clostridium</i>	<i>asparagiforme</i>	DSM 15981
26	<i>Eubacterium</i>	<i>rectale</i>	JCM 17463	54	<i>Enterococcus</i>	<i>faecalis</i>	ATCC 700802
27	<i>Bacteroides</i>	<i>xylanisolvans</i>	JCM 15633	55	<i>Clostridium</i>	<i>scindens</i>	JCM 6567
28	<i>Coprococcus</i>	<i>comes</i>	ATCC 27758	56	<i>Blautia</i>	<i>hansenii</i>	JCM 14655
29	<i>Bacteroides</i>						

Nature 464: 59–65 (2010)

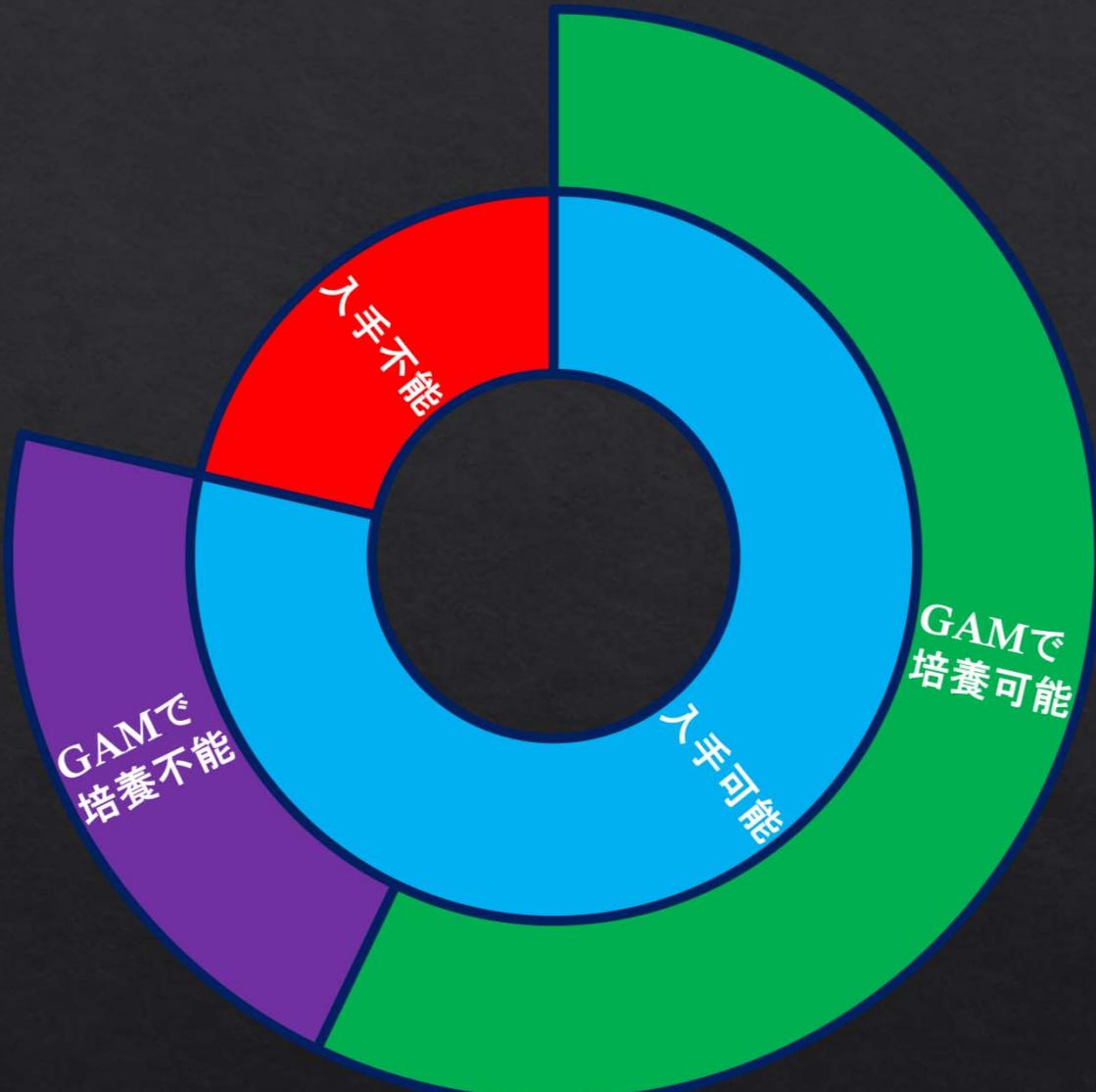
デンマークとスペインの健常成人と肥満成人を含む124人の腸内細菌を培養を介さない方法で解析し、占有率を上位56種について算出した。

GAM培地に
生えた

GAM培地に
生えなかつた

入手不可能

ヒト腸内細菌最優勢56種でGAM培地で生育可能な細菌



試験を行った44菌種のうち32菌種がGAM培地で培養可能であり、これはヒト最優勢56菌種の57%、入手可能な44種の79%であった。

ヒト腸内細菌最優勢32種を用いた解析システム



ヒト時腸内常在菌叢最優勢種、善玉菌などを96-wellプレート上でグリセロールストックし、使い捨てで使用。

<http://symbiogenic.blogspot.jp/2015/09/6096-well-plate.html>
(「石川 腸内細菌 96well」で検索)



96-well用植菌スタンプを用いた
ハイスループット培養・解析が可能。

Biosci Biotechnol Biochem. 2017 81:2009-2017.

ポリアミンと健康

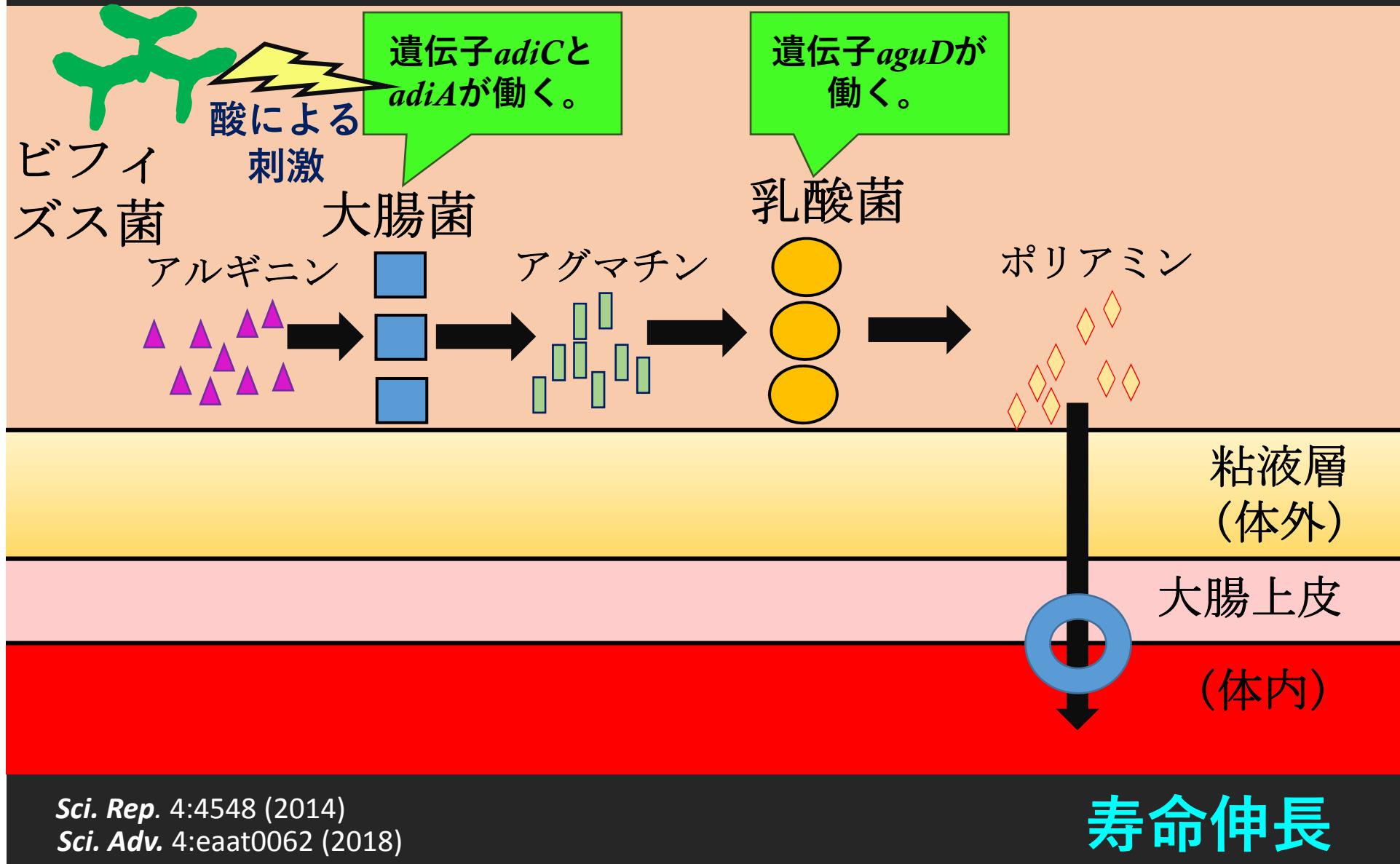
ハエ、酵母などでスペルミジンが寿命伸長に寄与し、
そのメカニズムはオートファジー誘導とヒストンのアセチル化の
促進であった。*Nat. Cell Biol.* 11:1305-14. (2009)

マウスにプロテッシン・スペルミジン・スペルミンの混合物を
経口投与することで、寿命伸長が起こった。
これらのマウスでは炎症が抑制されていた。
Exp. Gerontol. 44:727-32. (2009)

ハエに対するスペルミジン投与、あるいはODC
(プロテッシン合成酵素)の強制発現により、
オートファジーが誘導され、記憶力が増強された。
Nat. Neurosci. 16:1453-60. (2013)

スペルミジンの経口摂取は心筋細胞、腎臓で
オートファジー促進により心臓を保護し、寿命伸長に役立つ。
Nat. Med. 22:1428-1438. (2016)

複数の腸内細菌の代謝産物の受け渡しによるポリアミン產生機構



和食発酵食品のもつ腸内細菌の遺伝子と代謝産物への影響による機能性を明らかにしたい。



プロバイオティクスとプレバイオティクス

①プロバイオティクス細菌

発酵食品などに含まれ、
体内で有益な働きをする生菌
(腸内細菌叢では善玉菌
と呼ばれることが多い。)



例) 乳酸菌・ビフィズス菌

②プレバイオティクス



プロバイオティクス細菌を含む
有用菌を腸管内で増殖させる目的で
ヒトに経口摂取される難消化性物質

例) ラクチュロース・ラフィノース

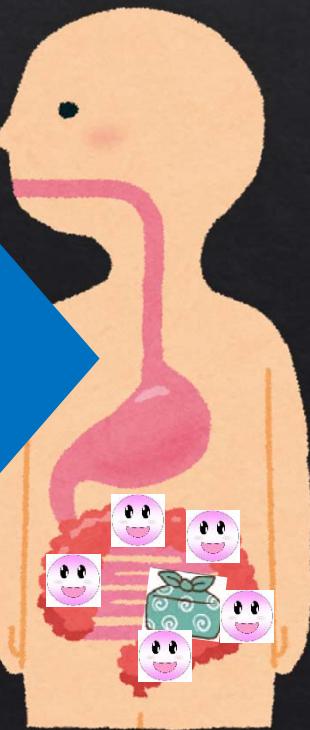
プロバイオ
ティクス細菌



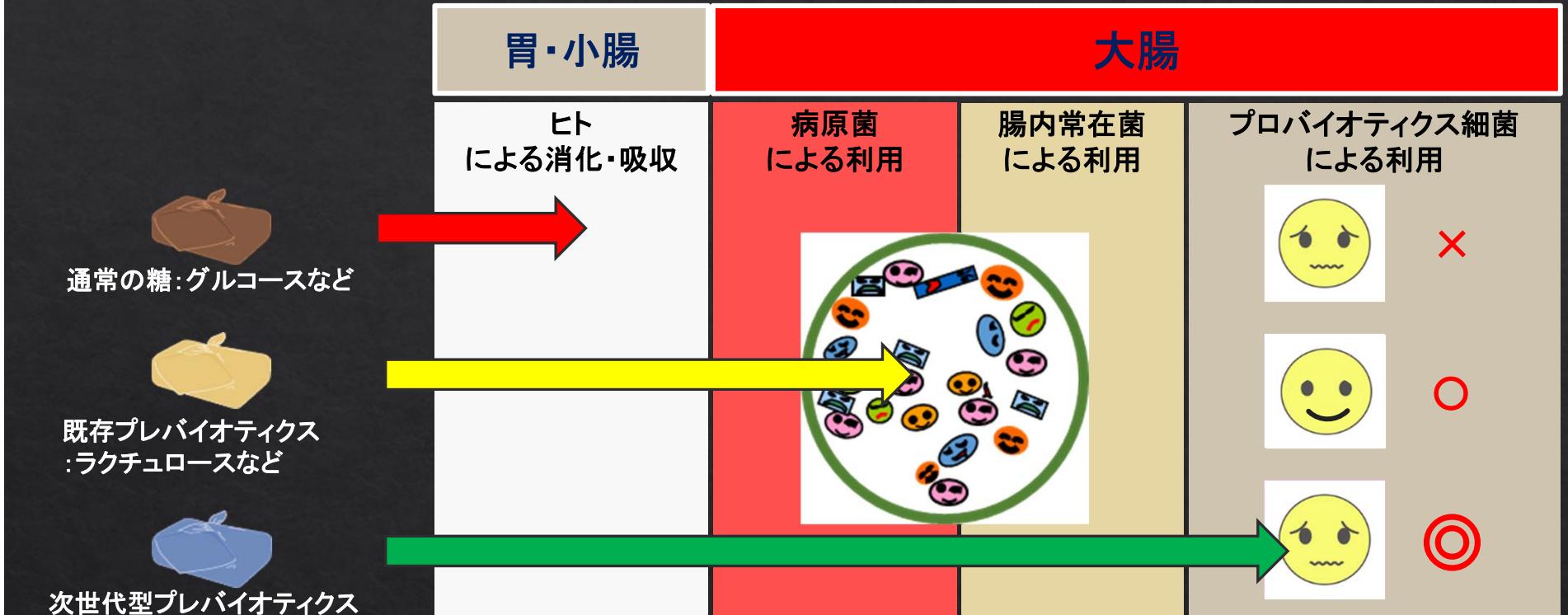
プレバイオ
ティクス



プロバイオティクス細菌 による
プレバイオティクス の利用



既存プレバイオティクスと次世代型プレバイオティクス



候補物質のスクリーニングを
様々な構造を持つ数10種類の
オリゴ糖ライブラリに対して行った。

共同研究者



中井博之准教授
(新潟大学)

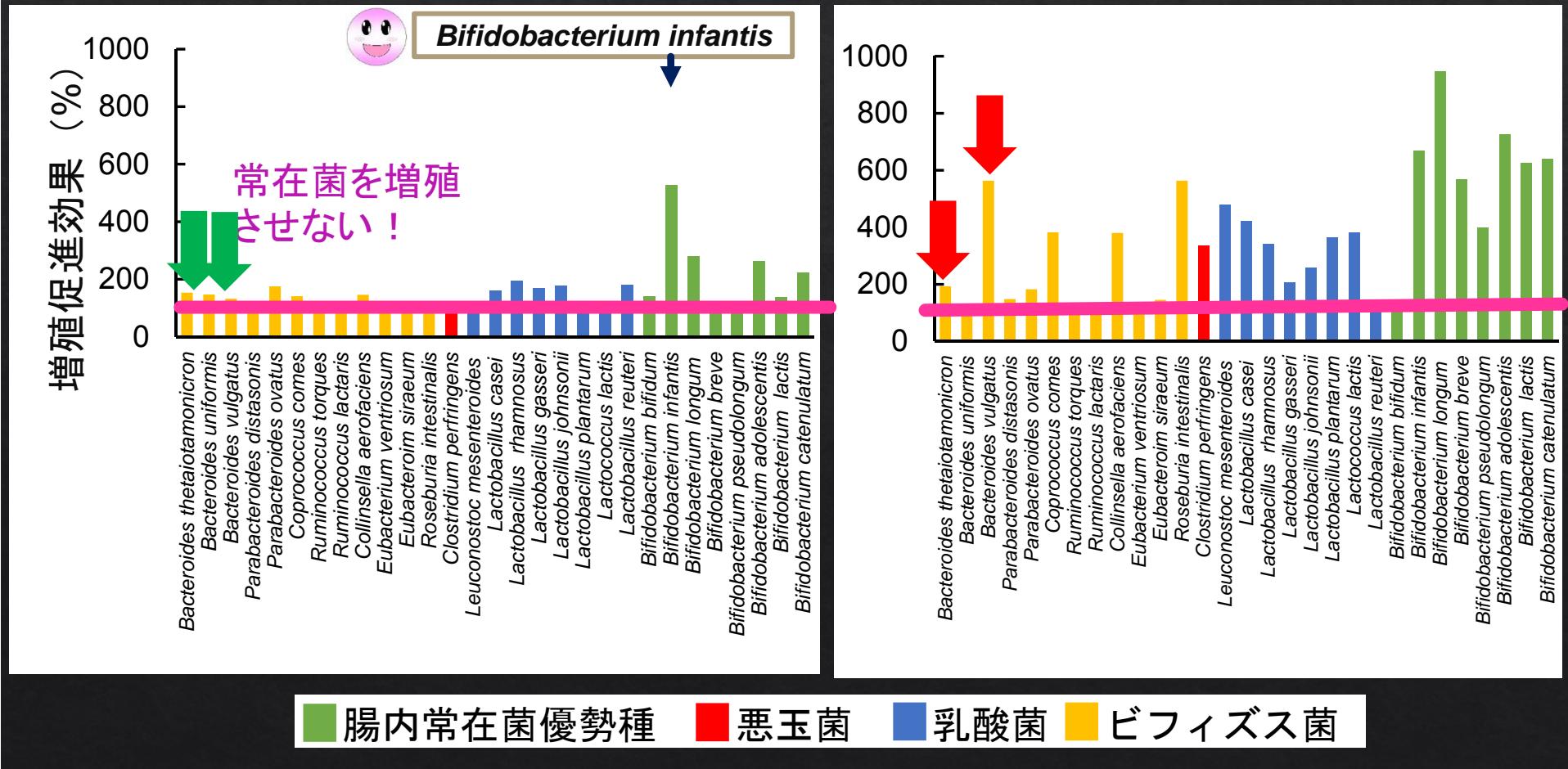


北岡本光先生
(農研機構)

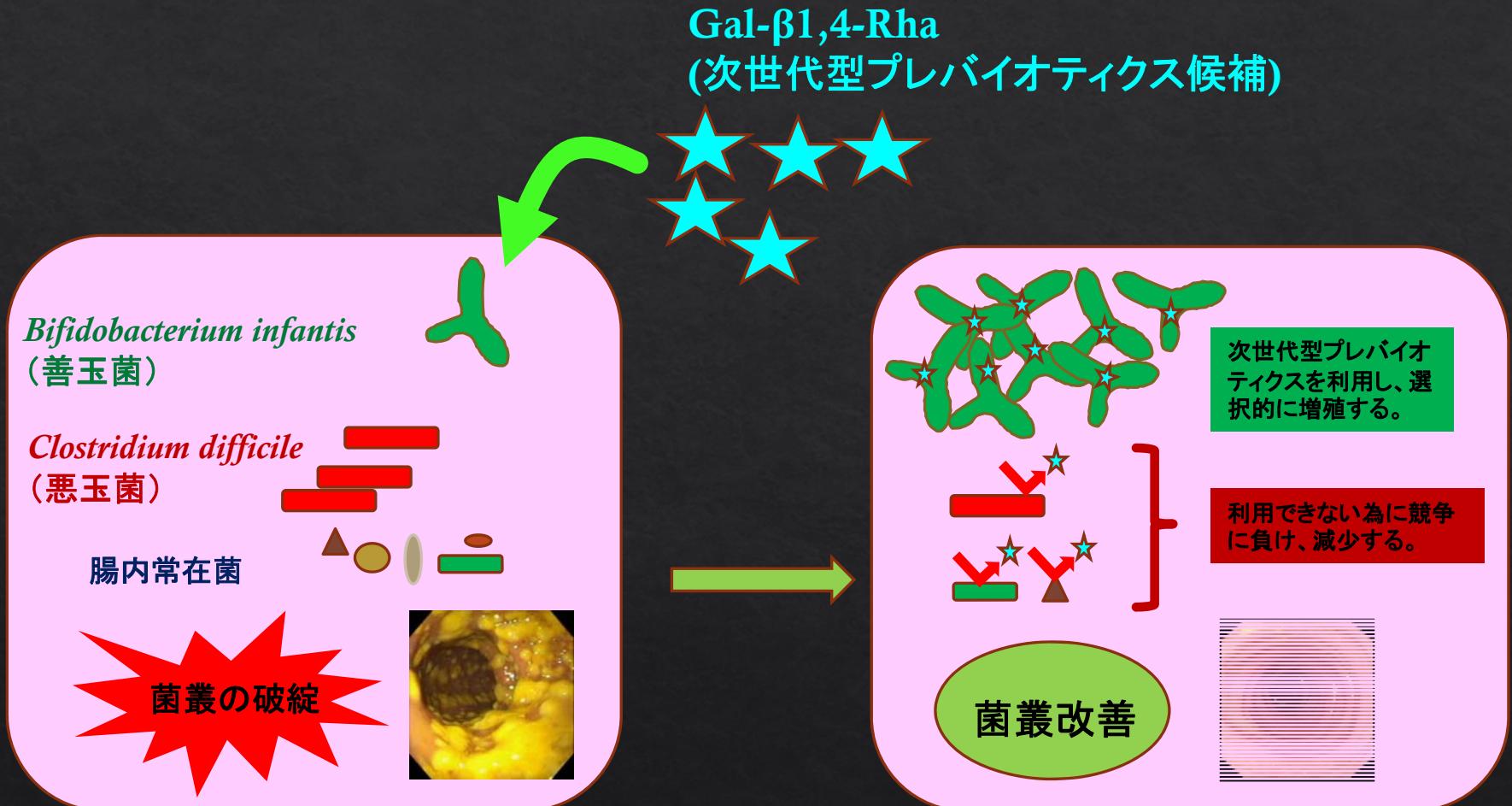
次世代型プレバイオティクス候補

Galactosyl- β -1,4-Rhamnose (Gal- β 1,4-Rha)

Galactosyl- β -1,4-Rhamnose
(次世代型プレバイオティクス候補)



Gal- β 1,4-Rhaによる菌叢改善効果のイメージ



和食素材由来食物纖維から 次世代型プレバイオティクスの宝庫？



まとめ

- ◆ 試験を行った腸内細菌44菌種のうち32種がGAM培地で培養可能であり、これはヒト腸内細菌最優勢56種(*Nature*, 2010, 464:59-65)の57%、入手可能な44種の79%であった。

この知見を用いたハイスループット解析系を用いて、

- ◆ 培養上清中と細胞内のポリアミン定量の結果は、腸内細菌最優勢種に多数の未知ポリアミン代謝・輸送系が存在することを示唆していた。
- ◆ ヒト時腸内常在菌叢最優勢種の一部が多量のフェネチルアミンを環境中に放出することと、このフェネチルアミン産生が芳香族アミノ酸脱炭酸酵素(AADC)遺伝子に依存することを示した。
- ◆ ヒト時腸内常在菌叢最優勢種には資化されず、プロバイオティクス細菌特異的に資化されるオリゴ糖Gal- β -1,4-Rhaを「次世代型プレバイオティクス」候補としてスクリーニングし、プロバイオティクス細菌*B. infantis*がGal- β -1,4-Rhaの存在下で偽膜性腸炎原因菌*C. difficile*を抑制することを示した。